Plant Pathology Bulletin 20: 21-25, 2011

由 *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* 引起之洋香瓜葉斑病

黃靜淑[1] 黃晉興[1,2] 陳泊菘[1]

[1]行政院農委會農業試驗所植物病理組
[2]聯絡作者，E-mail：jhhuang@tari.gov.tw；傳真：+886-4-23302803
接受日期：中華民國 101 年 4 月 9 日

摘　要

黃靜淑、黃晉興、陳泊菘. 2011. 由 *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* 引起之洋香瓜葉斑病. 植病會刊 20: 21-25.

2008 年 5 月於台中市霧峰區農業試驗所溫室發現洋香瓜 (台農十號) 發生一種葉部病害，其主要病徵為淡褐色輪紋病斑，嚴重時造成葉片乾裂。自罹病葉片可穩定分離到一種真菌，在馬鈴薯紅蘿蔔培養基上產生之分生孢子呈卵形，頂端圓鈍，大小為 9.4-38.5 × 6.2-11.6 μm (平均 25.9 × 9.0 μm)，具一短喙，1-4 個橫隔，0-2 個縱隔，分生孢子以串生方式著生於分生孢子梗上，串生方式具無規則性之分枝。將此真菌之分生孢子懸浮液噴灑於洋香瓜全株葉片進行人工接種，在日溫 28℃、夜溫 24℃下，約 14 days 後出現與溫室作物相同的病徵，並可再從病葉分離得到原接種之病原菌，完成柯霍氏法則，證實該菌對洋香瓜具有病原性。此外，該菌並可感染胡瓜、苦瓜、甘藍及番茄，但不感染豇豆與萵苣。依其形態特徵、rDNA-ITS 序列分析比對及寄主範圍測試，鑑定此菌為 *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*。此菌所引起之洋香瓜葉斑病為臺灣首次報導。

關鍵詞：洋香瓜，葉斑病，*Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*

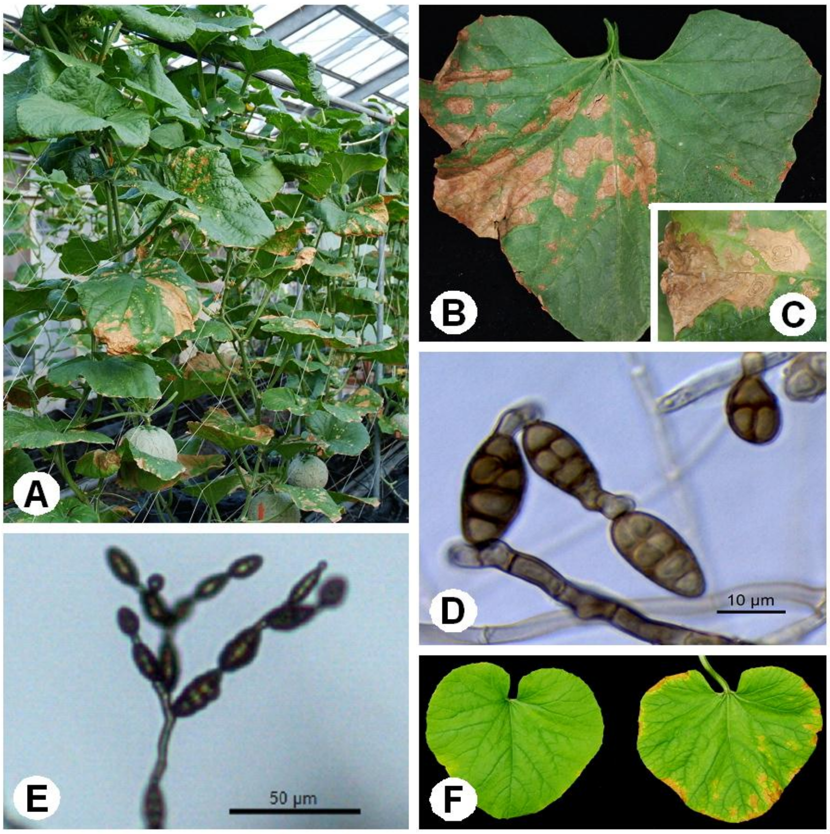
洋香瓜屬葫蘆科一年生蔓性草本作物，學名為 *Cucumis melo* L.，英名為 muskmelon 或 melon。根據農糧署民國九十八年度臺灣地區蔬菜生產概況統計指出，臺灣種植洋香瓜面積達 3,101 公頃，每公頃收穫量約為 13,180 公斤，其中又以臺南縣種植面積為最大 (1)。洋香瓜原產於中國、印度與非洲等地區，性喜溫暖多日照，生長適溫約在 25-30 ℃，因此相當適合種植於地處亞熱帶的臺灣 (4, 8)，但也由於臺灣氣候高溫多濕，因此洋香瓜生育期間易受多種病害侵染，目前在臺灣已被報導的洋香瓜病害包含有白絹病、白粉病、炭疽病、疫病、苗立枯病、病毒病、細菌性果斑病、黑點根腐病、褐斑病、蔓枯病、萎凋病及露菌病等 (5)。 2008 年 4、5 月間首次於臺中市霧峰區農業試驗所之溫室與網室中發現一種洋香瓜 (台農十號) 葉部病害，此病害好發於春末夏初時節，其病徵主要由葉緣開始，初期為褐色小斑點，病斑周圍帶有黃暈，隨後病斑逐漸擴大，數個小病斑可融和成大病斑，病斑上呈現同心輪紋 (圖一 A、B、C)，於解剖顯微鏡下可見輪紋上有分生孢子著生，嚴重時造成葉片乾裂。由於該病害之病徵不同前述洋香瓜已知之葉部病害，因此本研究針對此病害進行病原鑑定。

2008 年 5 月於台中市霧峰區農業試驗所栽種洋香瓜之溫網室採集罹病葉片，先經自來水洗淨後，切取病斑邊緣含有病健各半之葉片組織 (0.5×0.5 cm)，先以無菌水漂洗，再以 1% (v/v)次氯酸鈉水溶液進行表面消毒 1 min，再經無菌水漂洗一次，以滅菌過之衛生紙將葉片組織水分吸乾，將葉片組織移入 2% (w/v) 水瓊脂培養基 (WA，Bacto^{TM} Agar，Becton，Dickinson and Company，USA)，置於室溫下 (24－28 ℃) 培養 4－5 days 後，於罹病的葉片組織周圍可見菌絲與分生孢子產生，以滅菌過之移殖針切取菌絲尖端置於馬鈴薯葡

糖瓊脂平板培養基 (PDA，Difco™ Potato Dextrose Agar，Becton，Dickinson and Company，USA)，於室溫 (24－28℃) 光照下 (光照強度 24.4 μmol s^{-1} m^{-2}) 培養 7－10 days，待分生孢子產生後再進行單孢分離三次，培養於 PDA 斜面試管培養基中。將供試菌株 (Al-09905-1) 以單孢方式移殖至馬鈴薯紅蘿蔔瓊脂培養基 (PCA，potato carrot agar) [7]，於室溫 (24－28℃) 光照 (光照強度 24.4 μmol s^{-1} m^{-2}) 下培養 7 days 後，待分生孢子產生，於顯微鏡下觀察分生孢子形態與產孢方式。該菌之分生孢子為褐色，形態多呈卵形且孢子頂端圓鈍，大小為 9.4-38.5 × 6.2-11.6 μm，平均為 25.9 × 9.0 μm，具一短喙，1-4 個橫隔，0-2 個縱隔 (圖一 D)。分生孢子以串生方式著生於分生孢子梗上，串生方式具無規則性之分枝 (圖一 E)。依據 Simmons 分類 [7]描述鑑定為第 J 群之 *Alternaria alternata* (Fries) Keissler 。

取洋香瓜一臺農十號 (原溫室出現病害之品種) 作為供試作物，將種子裝入細網袋中並置於流動水中浸泡 8 hr 後，將種子移入置有浸濕濾紙 (Advantec filter paper，No. 91009161) 的 6 cm 培養皿，置於 28℃催芽 2 days，再將種子直播於裝填有栽培介質 (Peat moss，Tref Group，Netherlands) 的五吋圓盆中，每盆一株，置於植物生長箱 (光照 12 hr；日溫：28℃，夜溫：24℃) 中，培育六週後，作為供試作物。將 PDA 斜面培養基培養 10 days 的供試菌株以無菌水將分生孢子洗下，並將孢子懸浮液濃度調整為 1-4×10^4 conidia/ml ，均勻噴灑於供試洋香瓜全株葉片上 (2 ml/leaf)，以接種無菌水為對照，每處理六重複，並以塑膠袋套袋保濕，置於上述植物生長箱中培養 48 hr 後，再將塑膠袋打開。接種 2 wks 後，可發現中下位葉葉緣出現褐色病斑，病斑周圍帶有黃暈 (圖一 F)，與田間病徵相同 (圖一 A、B)。取接種之罹病葉進行病原微生物再分離，經分離鑑定後確定與原供試菌株相同，完成柯霍氏法則測試，確定此菌對洋香瓜具有病原性。此外，由於國內外文獻指出引起洋香瓜葉斑病之病原菌具有寄主專一性，僅對葫蘆科作物具有危害 [6, 9]，因此本研究針對甘藍 (*Brassica oleracea* L.；農友純英，Chuen-Ying, Known-You Seed Co.)、苦瓜 (*Momordica charantia* L.；農友 F855，F855, Known-You Seed Co.)、胡瓜 (*Cucumis sativus* L.；農友阿秀，A-Shiou, Known-You Seed Co.)、豇豆 (*Vigna sinensis* Hassk.；高雄青莢，Green Pod Kaoshiung, Known-You Seed Co.)、萵苣 (*Lactuca sativa* L.；農友紅翠，Red Rapid, Known-You Seed Co.)、番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.；農友 301，301, Known-You Seed Co.)與洋香瓜 (*Cucumis melo* L.；台農十號，Tainung No. 10, TARI) 共七種作物，依據上述種植洋香瓜之方式，置於 28℃催芽 2 days 後，直接播種於裝填有栽培介質之五吋圓盆中。培育 6 wks 後，以上述接種洋香瓜之方式進行葉面接種供試菌之分生孢子懸浮液 (10^4 conidia/ml)，並於 2 wks 後觀察記錄發病率與發病等級 (disease index)，發病等級區分為 5 級： 0 級：葉片上無產生任何病斑； 1 級：病斑占葉面積 0-5%；2 級：病斑占葉面積 6-10%； 3 級：病斑占葉面積 11-20%； 4 級：病斑占葉面積 21-50%； 5 級：病斑占葉面積 51-100%，且葉組織產生崩解，並計算發病度〔Disease severity (%) = Σ (發病程度 × 植株數)／(5 × 實驗總株數)〕。接種結果顯示洋香瓜、胡瓜、苦瓜、甘藍及番茄葉片上皆產生褐色病斑，病斑周圍帶有黃暈，且病斑上可見同心輪紋產生。洋香瓜、甘藍與胡瓜發病率皆為 100%，苦瓜與番茄發病率為 33%，萵苣與豇豆則不發病；發病度則以洋香瓜與胡瓜較為嚴重，分別為 53.3%與 40%；甘藍、番茄與苦瓜則分別為 26.7%、6.7%與 6.7% (表一)。並再經由組織分離確定為原接種之病原菌，顯示本研究中所分離獲得的洋香瓜葉斑病之病原菌並不只針對葫蘆科作物具有危害，對於甘藍與番茄亦具病原性。

國外常見之瓜類葉斑病是由 *A. cucumerina* 所引起之瓜類葉斑病 (亦稱瓜類葉枯病，leaf blight or leaf spot of melon) [2, 3, 11]，主要危害多種葫蘆科作物，尤以西瓜與洋香瓜易受侵染。該病原菌*A. cucumerina* 分生孢子形態屬長卵形，具絲狀喙 [7]，此與本菌卵形、短喙之分生孢子形態不同，且利用核醣體非轉錄區間 (Internal transcribed spacer region，ITS)之核酸序列進行分析比對，本菌 (*A. alternata* Al-09905-1) 之 ITS 序列 (ITS1+5.8S+ITS2 complete sequence，NCBI Accession Number：JF266575) 與登錄於美國國家生物技術資訊中心基因庫 (National Center for Biotechnology Information，NCBI) 中的一株 *A. cucumerina* 之 ITS 序列 (NCBI Accession Number：GU983657) 相似度僅為 93%，但與兩株 *A. alternata* 菌株之ITS序列 (NCBI Accession Number：GQ916545、GQ169766) 完全相同，由此鑑定本病原菌是 *A. alternata* 而非 *A. cucumerina*。除 *A. cucumerina* 所引起之瓜類葉斑病外，於1990年希臘學者首次發表證實 *A. alternata* f.



圖一、洋香瓜葉斑病與其病原菌。(A、B) 溫室洋香瓜葉斑病之病徵；(C) 罹病葉上產生輪紋病斑；(D、E) 病原菌 *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*分生孢子形態與分支串生情形； (F) 人工接種造成之病徵，左為健葉。

Fig. 1. The symptoms of Alternaria leaf spot and it's pathogen. (A, B) Alternaria leaf spot of muskmelon, (C) the diseased leaf showed ring spot, (D, E) morphology of conidia and conidial chains of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*, (F) the symptoms of Alternaria leaf spot of muskmelon after artificial inoculation; left is a healthy leaf.

表一、洋香瓜葉斑病菌 *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* 對不同供試作物之病原性。

Table 1. Pathogenicity of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* on different artificial inoculated crops

Family	Crops (cultivar)	Disease incidence [x] (%)	Disease severity [y] (%)
Compositae	*Lactuca sativa* L.(Red Rapid)	0	0
Cruciferae	*Brassica oleracea* L. (Chuen-Ying)	100	20.0
Cucurbitaceae	*Cucumis melo* L. (Tainung No. 10)	100	53.3
	C. sativus L. (A-Shiou)	100	40.0
	Momordica charantia L. (F855)	33	6.7
Leguminosae	*Vigna sinensis* Hassk. (Green Pod Kaoshiung)	0	0
Solanaceae	*Lycopersicon esculentum* Mill. (301)	33	6.7

x. Disease incidence (%) = [(number of disease plants) / (number of plants examined)] × 100%.

y. Disease index based on number and size of lesions and percentage of leaf area affected on the whole plant. 0: no symptoms; 1: 0-5% necrotic area; 2: 5-10% necrotic area; 3: 11-20% necrotic area; 4: 21-50% necrotic area; 5: 51-100% necrotic area. Disease severity (%) = [Σ (disease index × number of disease plants)/5 × number of plants examined] × 100%.

sp. *cucurbitae* 亦可引起瓜類葉斑病，且對葫蘆科作物具有專一性 (9)，1998 年與 2008 年的報告顯示分別於臺灣及美國亦發現此病菌感染其它葫蘆科作物造成病害 (6, 10)，根據黃氏指出 *A. alternata* f. sp. *cucurbitae* 在臺灣主要是引起苦瓜－絲瓜嫁接苗苗枯病，雖然此病害發生於冬季，最適發病溫度為 8－16℃，但對洋香瓜亦具有病原性 (6)。依據前述之病原菌形態、ITS 序列分析比對與寄主範圍測定等結果，鑑定本病原菌為 *A. alternata* f. sp. *cucurbitae* 。此外，在試驗過程中，發現苗齡超過 1 個月之植株接種才易發病，幼株接種不易成功，然而株齡對本病害發生之影響需進一步研究。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Anonymous. 2010. Agricultural statistics yearbook (2009). COA, Taiwan. 365 pp. (in Chinese)
2. Carmody, B. E., Miller, M. E., and Grisham, M. P. 1985. A technique to screen muskmelons for resistance to Alternaria leaf blight. Plant Disease 69:426-428.
3. Chandler, L. D., and Thomas, C. E. 1991. Effect of leaf miner feeding activity on the incidence of Alternaria leaf blight lesions on muskmelon leaves. Plant Disease 75:938-940.
4. Cheng, A. H., Huang, Y. M., Huang, J. C., Chen, S. K., and Peng, J. C. 2009. Safety production and management of muskmelon. Tainan District Agricultural Research and Extension Station, COA, Taiwan. 26 pp. (in Chinese)
5. Hsu, S. T., Chang, T. T., Chang, C. A., Tsai, J. L., and Tsai, T. T. 2002. List of plant diseases in Taiwan, 4th ed., Taiwan Phyto. Taiwan Phytopathological society, Taiwan, Republic of China. 386 pp. (in Chinese)
6. Hwang, C. H., Lin, Y. S., and Pan, C. M. 1998. Seedling blight of bitter gourd-loofah graft caused by *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* and its control in Taiwan. Plant Protection Bulletin 40:109-120.
7. Simmons, E. G. 2007. *Alternaria*-an identification manual. CBS Fungal Biodiversity Center, Netherlands. 775 pp.
8. Tsay, J. G., Tung, B. K., and Chen, R. S. 1999. Diagnose and control of melon diseases. The Committee of Agricultural Extension, National Chiayi Institute of Technology. Taiwan. 20 pp. (in Chinese)
9. Vakalounakis, D. J. 1990. Host range of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* causing leaf spot of cucumber. Plant Disease 74: 227-230.
10. Zhou, X. G., and Everts, K. L. 2008. First report of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* causing Alternaria leaf spot of melon in the mid-Atlantic region of the Unite States. Plant Disease 92:652.
11. Zitter, T. A., Hopkins, D. L., and Thomas, C. E. 1998. Compendium of cucurbit diseases. APS Press, U.S.A. 87 pp.

ABSTRACT

Huang, J. S.[1], Huang, J. H.[1,2], and Chen P. S.[1] 2011. Leaf spot of muskmelon caused by *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 20: 21-25. ([1] Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, COA, Wufeng, Taichung, Taiwan., [2] Corresponding author, E-mail: jhhuang@tari.gov.tw; FAX: +886-4-23302803)

A new disease, leaf spot of muskmelon (cultivar: Tainung No. 10), was found in the greenhouse and net house of central Taiwan in 2008. The symptoms of the disease initially showed brown flecks on the edge of the older leaves. The flecks gradually enlarged, coalesced, and formed large circular or irregular spots with chlorotic halos. The severely infected leaves became brown and dry. A kind of fungus could be constantly isolated from the diseased leaves. When cultured in potato carrot agar, the conidial chains of the fungus were freely branching. Conidia were brown, ovoid, 9.4–38.5 μm (ave. 25.9 μm) in length, 6.2–11.6 μm (ave. 9.0 μm) in width, short-beaked, and had 1-4 transverse septa and 0–2 longitudinal septa. The pathogenicity test was conducted by spore suspension spraying on the experimental plants. In the growth chamber at 28/24℃ (day/night) for 14 days, the fungus caused leaf spot of muskmelon similar as the symptoms in the greenhouse. The fungus could also infect *Brassica oleracea* var. *capitata*, *Cucumis melo*, *C. sativus*, *Momordica charantia*, and *Lycopersicon esculeutum*, but not *Lactuca sativa* and *Vigna sesquipedalis*. According to the morphology, pathogenicity test, ITS sequence analysis and host range test, the pathogen was identified as *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*. This is the first report of Alternaria leaf spot of muskmelon in Taiwan.

Keywords: muskmelon, leaf spot, *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae*